

## 不同培養條件對擬球藻生長與油脂生成量之影響

黃文楷<sup>1</sup> 吳淑姿<sup>2,3</sup> 余世宗<sup>1\*</sup>

大葉大學環境工程學系<sup>1</sup>

大葉大學生物產業科技學系<sup>2</sup>

大葉大學餐旅管理學系<sup>3</sup>

51591 彰化縣大村鄉學府路 168 號

### 摘要

本研究以光生化反應器批次方式培養擬球藻 (*Nannochloropsis* sp.)，探討培養基組成對擬球藻生長與油脂生成量的影響。包括不同碳源濃度 (NaHCO<sub>3</sub>, 0.1、0.2、0.3 M)、不同氮源濃度 (NaNO<sub>3</sub>, 0.1、0.2、0.3 g/L) 與酸鹼值 (pH, 8.4、9、9.5、10) 等，培養溫度與鹽度分別為 30 °C 與 25 g/L。實驗結果以 NaHCO<sub>3</sub> 濃度 0.1 M、NaNO<sub>3</sub> 濃度 0.3 g/L、pH 8.4 之培養基組成有最高的比生長速率，1.28 day<sup>-1</sup>。當碳源與氮源二者濃度增加至 NaHCO<sub>3</sub> 0.3 M 和 NaNO<sub>3</sub> 0.3 g/L 之培養，擬球藻之遲滯期 (lag phase) 延長且抑制擬球藻生長。培養液 pH 值隨氮源濃度增加而有增加趨勢。在不同碳源濃度下培養，培養液 pH 值隨碳源濃度增加而下降。於碳源充足而限制氮源濃度 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 濃度小於 0.15 g/L) 條件下培養，油脂占藻體乾重比例達 23.0%。於限制氮源濃度條件下培養，有利於擬球藻生成油脂。

**關鍵字：**擬球藻、微藻、光生化反應器、油脂。

## The Effect of Cultivation Conditions on the Growth and Oil Production of *Nannochloropsis* sp.

WEN-KAI HUANG<sup>1</sup>, SHWU-TZY WU<sup>2,3</sup> and SHIH-TSUNG YU<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup>Department of Environmental Engineering, Da-Yeh University

<sup>2</sup>Department of BioIndustry Technology, Da-Yeh University

<sup>3</sup>Department of Hospitality Management, Da-Yeh University

168 University Rd., Dacun, Changhua, Taiwan 51591, R. O. C.

### ABSTRACT

The effect of the chemical composition of a medium on the biomass and oil production of *Nannochloropsis* sp. was investigated using batch cultivation of photobioreactors. The culture media were 0.1, 0.2, and 0.3 M sodium bicarbonate, and 0.1, 0.2, and 0.3 g/L nitrate, at pH values of 8.4, 9, 9.5, and 10, a temperature of 30 °C, and a salinity of 25 g/L. The optimal proportional growth rate was 1.28 d<sup>-1</sup>, with carbon concentration, nitrogen concentration, and pH being 0.1 M, 0.3 g/L, and 8.4, respectively. When the concentration of carbon and nitrogen was increased to 0.3 M NaHCO<sub>3</sub> and 0.3

g/L NaNO<sub>3</sub>, the lag phase was extended and inhibited the growth of algae. The pH of the culture medium increased as the nitrogen concentration was increased. However, the pH of the culture medium decreased as the carbon concentration was increased. During the cultivation, a sufficient carbon supply and nitrogen limitation (less than 0.15 g/L of NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), resulted in oil production of 23%. The nitrogen limitation during the cultivation of *Nannochloropsis* sp. can enhance the biosynthesis of oil.

**Key Words:** *Nannochloropsis* sp., microalgae, photobioreactor, lipid.

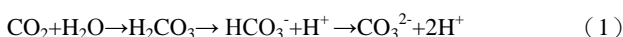
## 一、前言

近年來由於二氧化碳等溫室氣體造成溫室效應，引起嚴重暖化氣候變遷問題，且亦造成海水酸化影響海洋生物生長，因而改變海洋生態[9, 10]，全球皆積極投入開發利用與二氧化碳減廢相關的議題。與二氧化碳減廢問題相關的生質能因而受到高度關注，根據國際能源總署的統計，生質能是全球第四大能源，僅次於石油、煤及天然氣。生質能供應全球約 14% 的初級能源需求，也提供了開發中國家 35% 的能源，是目前最廣泛使用的再生能源[2]。

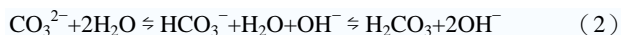
如同植物一樣，微藻可進行光合作用將空氣中的二氧化碳固定，轉化生成油脂。微藻生產油脂的速率比植物快，在經濟與時間成本考量上是頗具競爭力。因微藻具有高光合作用效率、生長速率快、基礎油脂含量高、油脂累積快速、容易培養、產收週期短等優勢，因而增加微藻成爲生產替代能源的可行性[6]。海洋中富含的大量微藻，利用微藻進行光合作用，足以提供純淨的生質能源，並達到二氧化碳減廢目的。微藻吸收二氧化碳進行光合作用，將二氧化碳轉化爲生質能源以生產生質柴油。微藻是水中浮游植物，遍佈全球各個水域，每年由微藻進行光合作用所固定的CO<sub>2</sub>，占地球全部CO<sub>2</sub>固定量的40%以上[1]，在能量轉化和碳元素循環中具有舉足輕重的作用。尤其是能進行光合作用生成成油脂的微藻，在細胞內形成油滴，更是受到矚目。這些微藻的油脂可進一步轉化爲生質柴油，提供能源。

微藻的含油量視不同屬種而有差異，且產油速率的快慢取決於微藻的生長速率。影響微藻生長限制因子包括光、二氧化碳、氧含量控制、溫度控制、鹽度、養分、酸鹼值、混合效果等，都對微藻的生長有重大的影響[5]。

自營生長的微藻利用水中的無機碳作爲生長所需之碳源，水中的無機碳存在形式會影響微藻對碳利用率，二氧化碳溶於水中的平衡方程式如式(1)所示，



在水中碳酸氫鹽的溶解度比碳酸鹽高，因此水溶液中主要以碳酸氫鹽型式存在，碳酸氫鹽的濃度將影響微藻的碳轉化率。碳酸、碳酸氫根與碳酸根在水溶液中互爲共軛酸鹼，其平衡關係如式(2)所示[7]，



文獻指出氮源是微藻類累積體內油脂的重要影響因素，微藻於氮源缺乏的環境培養下，微藻細胞內的分解葉綠體，提供葉綠體分子上鍵結氮原子，因而葉綠體含量下降，葉綠體內含有大量的磷脂和醣脂類，是藻體自行分解葉綠素以提供細胞氮源來適應氮源不足的情況，進而導致細胞內的三酸甘油酯含量增加[4, 8]。

培養溫度會影響水中二氧化碳與無機鹽類的溶解度，若水中的二氧化碳與鹽類的溶解度不佳則會造成培養碳源不足，而影響藻類的光合作用進行。此外，溫度提高亦會提升呼吸作用，淨光合作用效率降低[11]。超過攝氏30 °C，藻類的生長明顯變差，油脂含量亦隨溫度上升而下降[3]。鹽類在不同溫度中的溶解度，在30°C時鹽類溶解度可以配合微藻的生長溫度環境。培養系統中的鹽度高低會影響培養液的滲透壓，進而影響到藻類細胞的代謝，並抑制光合作用中光系統II (PSII) 進行，使藻類生長受到影響。鹽度對不同藻種而言，亦會在油脂含量和脂肪酸組成上造成影響。在高鹽度的培養環境下，擬球藻和等鞭金藻的油脂含量皆會上升，但菱形藻的油脂含量則會下降 [4]。

酸鹼值對於微藻培養有很大的影響，微藻生長有一定的適合酸鹼值區間，當微藻生長時消耗CO<sub>2</sub>而代謝出OH<sup>-</sup>使得水中環境的pH值升高。微藻大部分適合在pH 6-7.5的環境生長[6]。

擬球藻 (*Nannochloropsis* sp.) 是自營油質性微藻，可進行光合作用固定二氧化碳，將其轉換成化合物儲存於藻體

內並以油脂形式大量儲存，它的油脂含量可達乾重68%以上，以C16和C18脂肪酸為主，為生產生物柴油的理想之選。本研究擬探討擬球藻的營養源（碳源與氮源）培養條件，不同濃度之碳源與氮源對於微藻生長之影響及培養過程培養基pH之變化，期能以最佳的碳源與氮源組合條件來培養微藻。

## 二、材料與方法

### (一) 實驗藻種

本實驗培養的微藻為擬球藻 (*Nannochloropsis* sp.)，由行政院農業委員會水產試驗所東港分所自行篩選之藻種。擬球藻細胞為小球體，直徑 2-4  $\mu\text{m}$ ，無鞭毛，無眼點，外觀與綠球藻 (*Chlorella*) 極相似，顏色呈現綠色或黃綠色，是油質性微藻，富含油脂、生長快速、可進行光合作用固定二氧化碳、不占土地面積等特性。其光合作用的產物，可轉成化合物儲存於體內並以油脂形式大量儲存，為優良的生質能源作物，將其油脂萃取出來可作為生質柴油，提供能源。

### (二) 光生化反應器

本研究以批次方式培養微藻，進行三重覆試驗。培養微藻的反應器直徑 13.5cm、高 14.5cm、體積 2L 的壓克力材質容器，周圍以人工輔助光源 (FVS-H11442XTDEA，東亞照明製)，培養時以攪拌器攪拌，並以恆溫循環水槽維持的培養溫度。批次培養的條件為光強度 20,000 LUX、pH 8.4、30°C。

### (三) 培養基組成

本實驗以 Walne's medium 培養微藻，其組成為  $\text{Na}_2\text{EDTA}$ ，45 g/L、 $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，1.3 g/L、 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ，0.36 g/L、 $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ，20 g/L、 $\text{H}_3\text{BO}_3$ ，3.6 g/L、微量金屬培養液 1 mL。微量金屬培養液之組成為  $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ，0.2 g/L、 $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ，0.2 g/L、 $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ，0.44 g/L、 $(\text{NH}_4)_2\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ，0.09 g/L。人工海水以台鹽天然鹽與去離子水配置仿造海水，濃度為 25 g/L。微藻培養期間 pH 值變化以酸鹼度計測量 (F-51, HORIBA)。培養液 pH 值以稀鹽酸溶液或  $\text{Na}_2\text{CO}_3$  調整知之。

### (四) 酸鹼值與碳源濃度

為了觀察 pH 值與碳源濃度對比生長速率之影響，本實驗以六種不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度的培養基在三種酸鹼值環境中培養擬球藻， $\text{NaHCO}_3$  配置濃度分別為 0.01、0.05、0.1、0.15、0.2、0.3 M，將六個培養基的 pH 值分別調整不同起始 pH

值培養；為避免光遮蔽效應影響，微藻初始濃度控制在 O. D. 值 0.05 到 0.1 之間，培養時對於數生長期，量測酸鹼值、碳源濃度與比生長速率的關係。

### (五) 分析方法

#### 1. 微藻藻體濃度分析

微藻藻體濃度以分光光度計 (波長 680 nm，UV-1800，SHIMADZU) 測量樣品之光學密度 (O. D.，optical density) 值。微藻藻體乾重分析，取 200 mL 的微藻液置於離心管中，以高速離心機 (6000 rpm，CT-6D 型，HITACHI) 離心 15 min，去上清液，以 pH 4 的稀釋鹽酸溶液清洗藻體，去除殘留氯化鈉與無機鹽，離心，重複 3 次。將樣品置於鋁盤，放入 105°C 熱風循環乾燥箱乾燥秤至恆重。

微藻比生長速率 ( $\mu$ )

$$\mu = (\ln A - \ln B) / t \quad (3)$$

$\mu$ ：微藻比生長速率 ( $\text{time}^{-1}$ )。

A：經過 t 時間培養後微藻濃度 (g/L)。

B：培養前微藻初始濃度 (g/L)。

t：培養時間。

#### 2. 碳酸氫根與碳酸根濃度測定

藻液中的  $\text{HCO}_3^-$  與  $\text{CO}_3^{2-}$  之濃度，分析步驟如下：

- (1) 取微藻溶液 40 mL 置於離心管，以 6000 rpm 離心 15 min。
- (2) 取上層澄清液 10 mL 至於小燒杯中。
- (3) 以兩點校正法校正 pH 計，以 0.1 N 之鹽酸溶液將所製備之澄清液滴定至 pH 8.3，並記錄鹽酸溶液使用量 (mL)。
- (4) 將步驟 3 滴定完成之澄清液，繼續以 0.1 N 鹽酸溶液滴定至 pH 4.5，並記錄鹽酸溶液使用量 (mL)。
- (5) 設步驟 3 之鹽酸溶液滴定使用量為 C (mL)，步驟 4 鹽酸溶液滴定使用量為 D (mL)，則  $\text{HCO}_3^-$  與  $\text{CO}_3^{2-}$  之濃度計算方式如下，單位為 (g/L)。

$$[\text{CO}_3^{2-}] = C \times 0.1 (\text{鹽酸當量濃度, N}) / 10 (\text{樣品體積, mL}) \times \text{分子量} (\text{CO}_3^{2-}) / 2 \quad (4)$$

$$[\text{HCO}_3^-] = (D - C) \times 0.1 (\text{鹽酸當量濃度, N}) / 10 (\text{樣品體積, mL}) \times \text{分子量} (\text{HCO}_3^-) \quad (5)$$

### 3. 硝酸鹽氮測定

硝酸鹽氮測定方法為分光光度計法，待測樣品之製備與分析步驟如下：

- (1) 取微藻溶液 40 mL 置於離心管中，以 6000 rpm 離心 15 min。
- (2) 取上層澄清液 1 mL 置於 50 mL 定量瓶中，以去離子蒸餾水定量至刻度後，移置燒杯內，此時的溶液稀釋倍率為 50 倍。
- (3) 於燒杯內加入 1 M 之鹽酸溶液 1 mL，均勻混合以去除水體中  $\text{CaCO}_3$  之干擾，以分光光度計分別於 220 nm 與 275 nm 之測量吸光值。

### 4. 油脂含量測定

本實驗是以氯仿與甲醇溶液萃取粗脂肪，樣品製備與萃取步驟如下：

- (1) 取 200 mL 藻液分裝於 5 支 40 mL 離心管中，以 6000 rpm 離心 15 min，去除上層液，沉澱藻體以去離子蒸餾水沖洗，再進行一次離心。
- (2) 將步驟 1 之藻體，加入氯仿與甲醇溶液（體積比 2:1），搖晃使藻體與有機溶液混合，置於超音波震盪機震盪 3 h。
- (3) 將藻體與萃取液以抽氣過濾進行分離，過濾後之萃取液，置於鋁盤，移至抽氣櫃，待有機溶劑於室溫中揮發至乾，將鋁盤與內容物置於烘箱以 95 °C 乾燥 2 h、冷卻，秤重，即可得所萃取脂肪之重量。

## 三、結果與討論

本研究以光生化反應器批次方式培養擬球藻，光生化反應器為壓克力材質容器，直徑 13.5 cm、高 14.5 cm、體積 2 L，周圍環繞人工輔助光源，培養時以攪拌器攪拌並維持恆溫培養。探討不同碳源、氮源濃度與 pH 對擬球藻生長與油脂合成量的影響，並量測培養期間生質量 (O. D.)、培養基 pH、 $\text{HCO}_3^-$ 、 $\text{CO}_3^{2-}$ 、 $\text{NO}_3^-$ 、油脂濃度等變化，並計算其比生長速率。

### (一) 不同碳源與氮源濃度培養

實驗之碳源與氮源分別為  $\text{NaHCO}_3$  與  $\text{NaNO}_3$ 。擬球藻以不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度 (0.1、0.2 和 0.3 M)、 $\text{NaNO}_3$  濃度 (0.1、0.2 和 0.3 g/L)，測量計算其比生長速率。

圖 1 為不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度 (0.1、0.2、0.3 M) 分別在  $\text{NaNO}_3$  濃度為 0.1、0.2、0.3 g/L、鹽度 25 g/L 條件下培養擬

球藻之生長曲線。結果顯示，在固定碳源濃度下培養，擬球藻之生質量隨氮源濃度增加而增加。以  $\text{NaHCO}_3$  濃度 0.1 M、 $\text{NaNO}_3$  濃度 0.3 g/L 培養，可得最高之生質量 O. D. 1.38。當  $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{NaNO}_3$  二者濃度增加，擬球藻之生質量減少， $\text{NaHCO}_3$  濃度為 0.3 M 和  $\text{NaNO}_3$  濃度為 0.3 g/L 之培養，延長擬球藻之遲滯期 (lag phase)，培養七天之生質量低於 O. D. 1.20。鹽類濃度增加，培養液成高漲溶液，因而延長擬球藻延至期，擬球藻較無法適應於高漲溶液生長，此結果與小球藻類似 [4]。

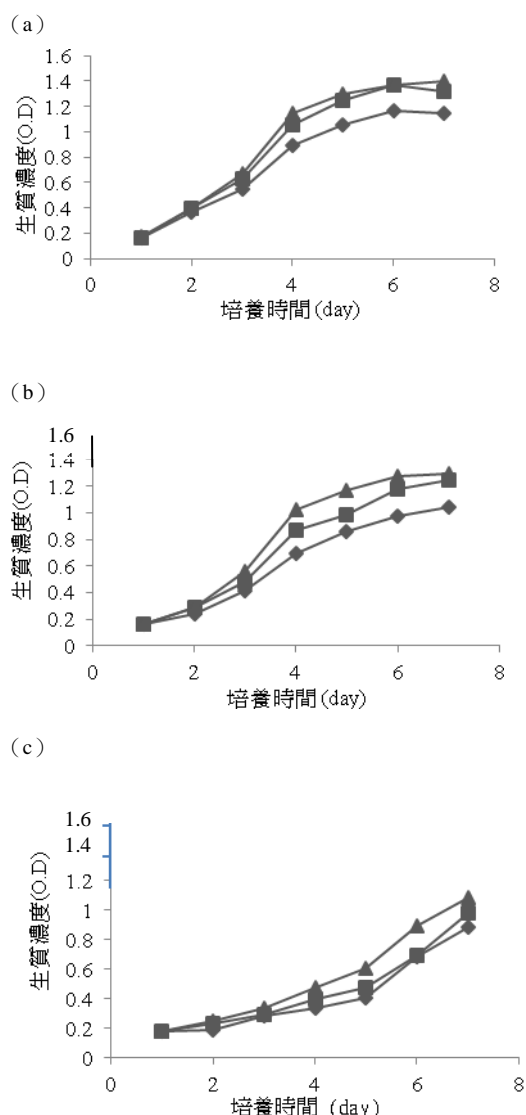
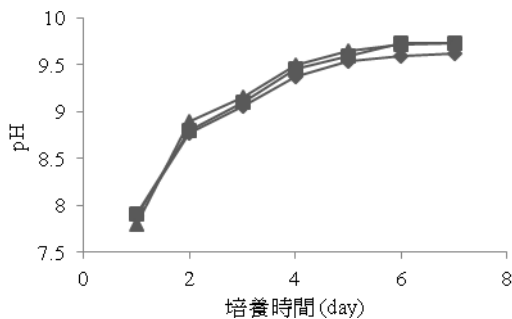


圖 1. 不同  $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{NaNO}_3$  濃度培養擬球藻之生長曲線  
(a) 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ ; (b) 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$ ; (c) 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$ ;  $\text{NaNO}_3$  濃度 ◆:0.1 g/L; ■:0.2 g/L; ▲:0.3 g/L

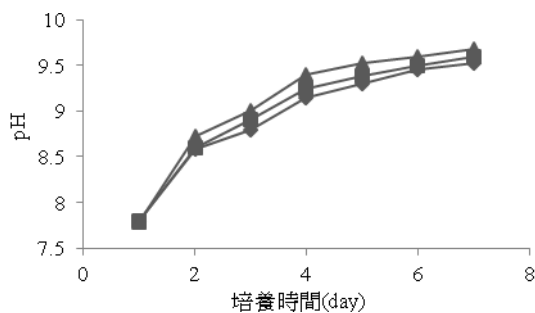
## (二) 培養期間培養液 pH 值變化

圖 2 為不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度 (0.1、0.2、0.3 M) 分別在  $\text{NaNO}_3$  濃度為 0.1、0.2、0.3 g/L、鹽度 25 g/L 條件下培養擬球藻之 pH 值變化。結果顯示，在固定碳源濃度下培養，培養液 pH 值隨氮源濃度增加而增加趨勢。在不同碳源濃度下培養，培養液 pH 值隨碳源濃度增加而下降，在 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$  下培養 7 h，培養液 pH 值高於 9.5；在 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$  下培養 7 h，培養液 pH 值低於 9.5。擬球藻 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$  下培養，生長速率較慢，對二氧化碳或碳酸的利用速率較緩，因而 pH 值較低。

(a)



(b)



(c)

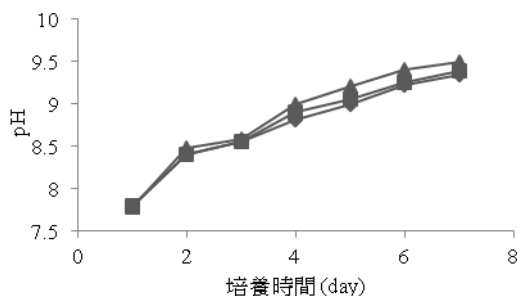


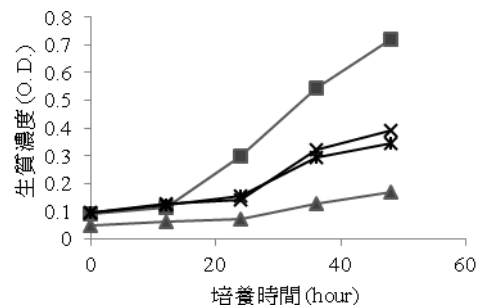
圖 2. 不同  $\text{NaHCO}_3$  和  $\text{NaNO}_3$  濃度培養擬球藻之 pH 值變化 (a) 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ ; (b) 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$ ; (c) 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$ ;  $\text{NaNO}_3$  濃度 ◆: 0.1 g/L; ■: 0.2 g/L; ▲: 0.3 g/L

## (三) 不同 pH 值培養之比生長速率與系統產率

擬球藻生長時培養環境的 pH 值會隨培養時間增加而升高，因而影響培養液中無機碳的存在化學型式，進而影響微藻生長時的碳利用率。在固定  $\text{NaNO}_3$  0.1 g/L、鹽度 25 g/L、溫度 30 °C 培養條件下，調整培養液起始 pH 值分別為 8.4 和 9，以不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度 (0.05、0.15、0.2、0.3 M) 培養，結果列於圖 3。結果顯示，在不同 pH (8.4 和 9) 環境下培養擬球藻，以  $\text{NaHCO}_3$  濃度為 0.05 M、pH 8.4 培養 48 h 可獲得較高生質濃度 O. D. 0.74， $\text{NaHCO}_3$  濃度增加抑制擬球藻生長。

擬球藻於固定  $\text{NaNO}_3$  0.1 g/L、不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度 (0.01、0.05、0.1、0.15、0.2、0.3 M) 與不同起始酸鹼值 (pH 8.4、9、9.5、10) 環境培養之比生長速率於圖 4，隨培養 pH 值增加，其比生長速率降低，於 pH 10 之培養，擬球藻幾乎無法生長，擬球藻僅較適於微鹼性環境下生長。以  $\text{NaHCO}_3$  濃度 0.1 M、pH 8.4 之培養基組成有最高的比生長速率為  $1.28 \text{ day}^{-1}$ 。

(a)



(b)

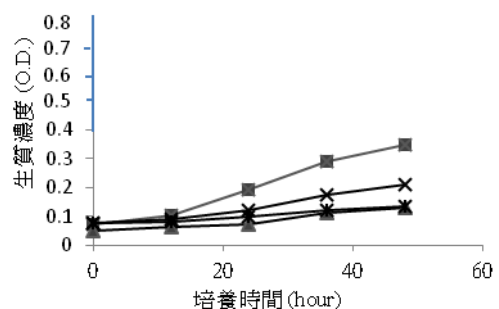


圖 3 不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度與培養液 pH 對擬球藻生長之影響 (a) pH 8.4; (b) pH 9;  $\text{NaHCO}_3$  濃度 ■: 0.05 M; ▲: 0.15 M; ×: 0.2 M; \* : 0.3 M

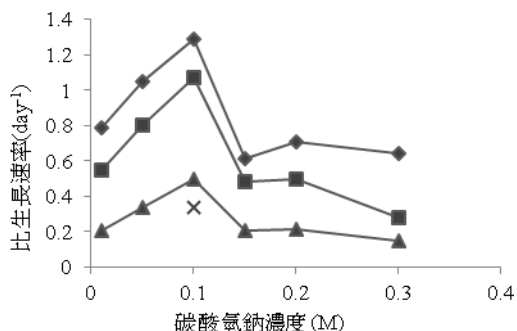


圖 4. 不同  $\text{NaHCO}_3$  濃度在不同酸鹼值環境的比生長速率; pH: ◆: 8.4; ■: 9.0; ▲: 9.5; x: 10.0

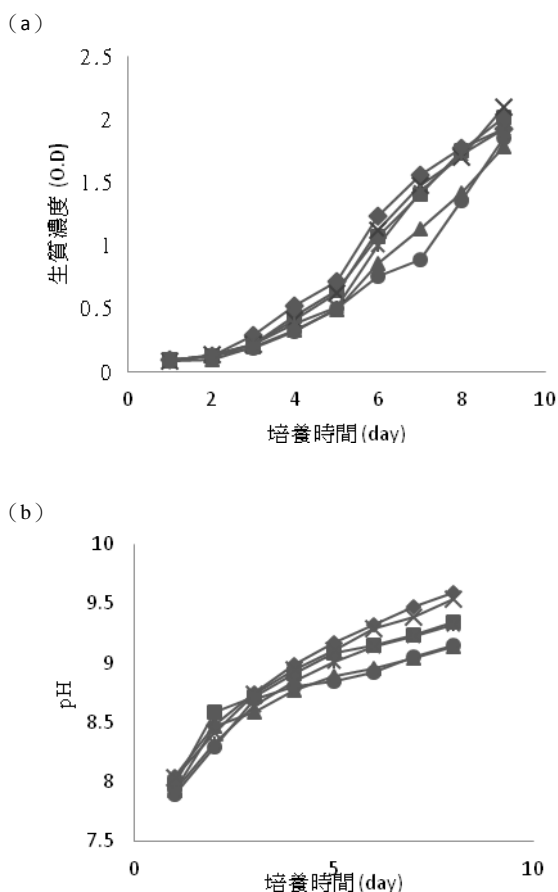


圖 5 培養基中碳源及氮源初始濃度對擬球藻 (a) 生質濃度 (b) 培養液 pH 值變化影響; 固定  $\text{NaNO}_3$  濃度 0.5 g/L, 改變  $\text{NaHCO}_3$  濃度: ◆ 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ ; ■ 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$ ; ▲ 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$ ; 固定  $\text{NaNO}_3$  濃度 1.0 g/L, 改變  $\text{NaHCO}_3$  濃度: x 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ ; \* 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$ ; ● 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$

#### (四) 提昇油脂生成量之培養

為提昇擬球藻油脂生成量, 本試驗旨在探討培養基中

碳源及氮源濃度對於油脂生成量影響。實驗分二階段進行, 第一階段在碳源及氮源充足條件下培養擬球藻, 著重於提昇擬球藻生質濃度; 第二階段於限制氮源條件下培養擬球藻, 探討氮源濃度對擬球藻油脂生成量影響, 實驗結果如圖 5 所示, 在碳源及氮源充足條件下培養擬球藻, 其生質濃度隨培養時間增加而增加, 以  $\text{NaNO}_3$  濃度 0.5 g/L 及  $\text{NaHCO}_3$  濃度 0.1 M 之培養可得最高生質濃度。培養液 pH 值變化亦有類似趨勢, 隨培養時間增加而增加,  $\text{NaNO}_3$  濃度 0.5 g/L 及  $\text{NaHCO}_3$  濃度 0.1 M 之培養 8 天時的 pH 值最高為 9.6。

培養過程碳源存在的化學型態濃度變化如圖 6 所示,  $\text{HCO}_3^-$  於培養液中濃度隨培養時間增加而減少, 而  $\text{CO}_3^{2-}$  於培養液中濃度隨培養時間增加而增加。於培養初期, 碳源型態主要以  $\text{HCO}_3^-$  存在, 培養過程培養液之 pH 隨培養時間增加而增加, 形成較偏鹼性的環境, 依  $\text{H}_2\text{CO}_3$  的酸解離常數 (acid dissociation constant,  $K_{a1}$   $1.5 \times 10^{-4}$ ,  $K_{a2}$   $4.69 \times 10^{-11}$ ) 判斷, 在較偏鹼性的環境, 碳源型態主要以  $\text{CO}_3^{2-}$  存在。

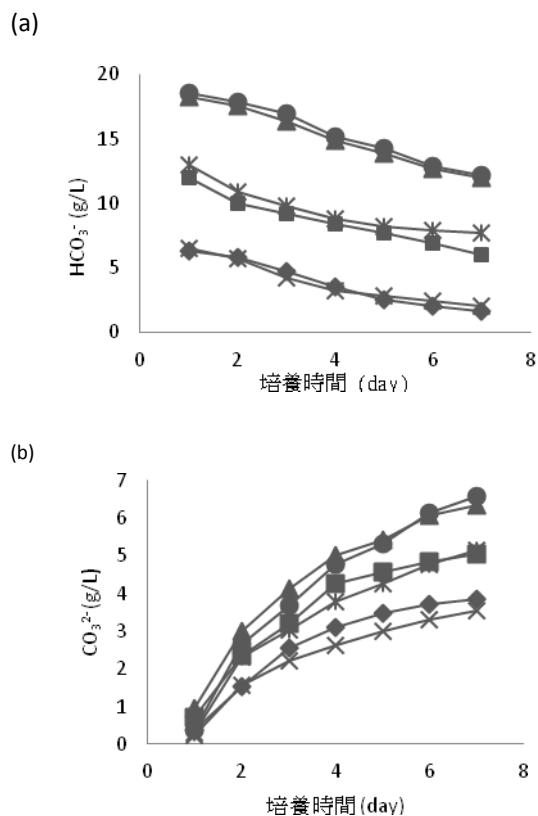


圖 6 培養過程碳源型態濃度變化 (a)  $\text{HCO}_3^-$ ; (b)  $\text{CO}_3^{2-}$ ; 0.5 g/L  $\text{NaNO}_3$ ; ◆ 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ ; ■ 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$ ; ▲ 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$ ; 1.0 g/L  $\text{NaNO}_3$ ; x 0.1 M  $\text{NaHCO}_3$ ; \* 0.2 M  $\text{NaHCO}_3$ ; ● 0.3 M  $\text{NaHCO}_3$

表一. 擬球藻之油脂生成量

微藻實驗編號	1	2	3	4	5	6
最初氮碳源濃度						
NaNO <sub>3</sub> (g/L)		0.5			1.0	
NaHCO <sub>3</sub> (g/L)	8.0	16.0	24.0	8.0	16.0	24.0
培養 9 天取樣						
藻體乾重 (g/L)	0.753±0.082	0.787±0.079	0.700±0.060	0.817±0.080	0.753±0.058	0.726±0.056
油脂濃度 (g/L)	0.097±0.011	0.110±0.007	0.103±0.008	0.079±0.009	0.082±0.008	0.109±0.013
油脂比例 (%)	12.8	13.7	15.1	12.3	13.1	16.1
培養 13 天						
添加 NaNO <sub>3</sub> (g/L)	0	0	0	0.5	1	1.5
培養液 NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> (g/L)	0.082±0.007	0.148±0.015	0.140±0.013	1.065±0.011	1.567±0.158	1.980±0.165
培養液 pH	9.14±0.65	9.12±0.71	9.18±0.65	10.02±0.89	9.69±0.79	9.52±0.87
培養 20 天取樣						
藻體乾重 (g/L)	1.218±0.125	0.995±0.087	1.022±0.118	0.750±0.056	0.753±0.083	0.878±0.089
油脂濃度 (g/L)	0.115±0.01	0.120±0.014	0.165±0.015	0.010±0.002	0.010±0.001	0.035±0.004
油脂比例 (%)	14.4	16.4	23.0	2.0	2.6	5.5

培養期間分析擬球藻油脂生成量，結果列於表一。於培養 9 天取樣分析擬球藻油脂生成量，結果顯示，在相同氮源濃度培養，隨碳源添加量增加擬球藻之油脂濃度與油脂比例均增加，培養至 13 天，調整氮源濃度，並分析培養液 NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 濃度與 pH，於培養第 20 天取樣分析擬球藻油脂生成量，探討氮源濃度對擬球藻油脂生成量影響。表一結果顯示，在碳源充足而限制氮源濃度(NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 濃度小於 0.15 g/L) 條件下培養，隨碳源添加量增加其油脂含量與油脂比例均增加，油脂占藻體乾重比例可達 23.0%，但擬球藻在氮源充足 (NO<sub>3</sub><sup>-</sup> 濃度大於 1.0 g/L) 條件下培養，其油脂含量與油脂比例均降低，於限制氮源濃度條件下培養，有利於擬球藻合成油脂，此結果與一般能合成油脂之微生物相同[8, 12]。

#### 四、結論

擬球藻為一容易培養之藻類，實驗結果顯示，影響擬球藻的生長的最關鍵因素為培養基之 pH 值，pH 值越高生長速率越低，因此調降 pH 值為培養策略中之最重要因子。培養基碳源濃度與氮源濃度組成對擬球藻生長與油脂生成量的實驗結果顯示，以 NaHCO<sub>3</sub> 濃度 0.1 M、NaNO<sub>3</sub> 濃度 0.3 g/L，pH 8.4 之培養基組成有最高的比生長速率為 1.28 day<sup>-1</sup>，高碳源與氮源濃度則抑制擬球藻生長，培養液 pH 值隨氮源濃度增加而有增加趨勢，在不同碳源濃度下培養，培

養液 pH 值隨碳源濃度增加而下降，在限氮條件下培養擬球藻，有利於其合成油脂，油脂可達藻體乾重 23.0%。

\*此試驗為三重覆之平均值。

#### 參考文獻

- 林志生、邱聖壹 (民 99)，光生物反應器於微藻培養之研究與產業化的進展，動物與水產生技，22，44-51。
- 吳耿東、李宏台 (民 93)，生質能源-化腐朽為能源，科學發展，383，20-27。
- 吳欣慧 (民 97)，以二階段培養模式培養小球藻 (*Chlorella* sp.) 生產油脂之研究，淡江大學水資源及環境工程學系碩士論文。
- 黃毓涵 (民 98)，小球藻最適化連續式培養之研究，國立成功大學化學工程學系碩士論文。
- 謝誌鴻、吳文騰 (民 98)，微藻-綠色生質能源，科學發展，433，36-40。
- 蕭茂修 (民 96)，以海洋微藻固定 CO<sub>2</sub> 並作為生質能源之研究，國立成功大學環境工程學系碩士論文。
- Becker, E. W. (1994) *Microalgae: biotechnology and microbiology*. University of Cambridge Press, New York.
- Bondioli, P., L. D. Bella, G. Rivolta, G. C. Zittelli, N. Bassi, L. Rodolfi, D. Casini, M. Prussi, D. Chiamonti and M. R. Tredeci (2012) Oil production by the marine microalgae *Nannochloropsis* sp. F&M-M24 and *Tetraselmis suecica*

- 
- F&M-M33, *Bioresource Technology*, 114, 567–572.
9. Branch, T. A., B. M. DeJoseph, L. J. Ray and C. A. Wagner (2013) Impacts of ocean acidification on marine seafood. *Trends in Ecology & Evolution*, 28, 178-186.
10. Kuroyanagi, A., H. Kawahata, A. Suzuki, K. Fujita and T. Irie (2009) Impacts of ocean acidification on large benthic foraminifers: Results from laboratory experiments, *Marine Micropaleontology*, 73, 190-195.
11. Pulz, O. (2001) Photobioreactors: production systems for phototrophic microorganisms, *Applied Microbiology and Biotechnology*, 57, 287-293.
12. Sforza, E., A. Bertucco, T. Morosinotto and G. M. Giacometti (2012) Photobioreactors for microalgal growth and oil production with *Nannochloropsis salina*: From lab-scale experiments to large-scale design, *Chemical Engineering Research and Design*, 90, 1151–1158.

收件：103.10.02 修正：103.11.11 接受：104.01.12